

Attorney Docket: 2191/49928
PATENT

HS

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

O I P E AUG 22 2001
P A T E N T & T R A D E M A R K O F F I C E
Applicant: FUZHAI CUI ET AL.

Serial No.: 09/845,724

Filed: MAY 2, 2001

Title: NANO-CALCIUM PHOSPHATES/COLLAGEN BASED BONE
SUBSTITUTE MATERIALS

CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. §119

Box Missing Parts

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

The benefit of the filing date of prior foreign application No. 00 1 07493.8, filed in P. R. China on May 19, 2000, is hereby requested and the right of priority under 35 U.S.C. §119 is hereby claimed.

In support of this claim, filed herewith is a certified copy of the original foreign application.

Respectfully submitted,

August 22, 2001

J. D. Evans
Registration No. 26,269

CROWELL & MORING, LLP
P.O. Box 14300
Washington, DC 20044-4300
Telephone No.: (202) 628-8800
Facsimile No.: (202) 628-8844

JDE/ajf

00·06·19

权利要求书

1. 一种纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料的制备方法，包括下列各步骤：

(1) 将 H₃PO₄ 逐滴加入胶原溶液中，每 0.1mol H₃PO₄ 加入 1.79g 胶原，同时要用搅拌器搅拌，滴加完毕后继续搅拌此溶液 20 分钟；

(2) 称取结晶良好的 CaCl₂·6H₂O 溶于去离子水使其完全溶解，随后将其逐滴加入到步骤 1 制备的溶液中，其中 CaCl₂ 和 H₃PO₄ 的摩尔比为 1.66，并继续搅拌 1 小时以保证钙离子和磷酸根的充分分散；

(3) 逐滴加入 NaOH 溶液以使 pH 值为 6~8；

(4) 静置溶液除去上清，离心分离出沉淀，用去离子水反复清洗三次后，放入冻干机内冰冻干燥，制得钙磷盐干粉备用；

(5) 称取聚乳酸，再加入 1,4-二氧六环溶剂，以制备重量体积比浓度为 1%—10% 的溶液，混合物在 40~50℃ 搅拌 10~15 分钟，得到均质的溶液；

(6) 在上述溶液中加入钙磷盐粉料，钙磷盐与聚乳酸的质量比为 0.8~1.2，制得聚乳酸/钙磷盐/胶原混合物；

(7) 取聚乳酸/钙磷盐/胶原/1,4-二氧六环 混合物加热至 40~50℃ 停留 3~5 分钟，然后在 -15~0℃ 冷冻以固化溶剂并引起固液分相，固化的混合物在此温度下保温 1~2 小时，浸入液氮深度冷冻 10~15 秒钟，最后冰冻干燥 72~100 小时，即为本发明的纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料。

000-005-10

说 明 书

纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料的制备方法

本发明涉及一种纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料的制备方法，属生物工程技术领域。

现有的人造骨替代材料有金属材料、陶瓷材料、高分子材料、复合材料等几种，各有其优缺点。从仿生的角度将如果能得到成分与人骨相近的材料是最好的。为此材料的无机成分应该是钙磷盐。但是普通的钙磷盐材料如果经过烧结会很难降解，且脆性大不易加工。未烧结则强度很差。

本发明的目的是提出一种纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料的制备方法，克服已有技术中的缺点，使用胶原为分子模板，制备出一定程度上排列有序的纳米相钙磷盐。并用热致分相随后冰冻干燥的方法使它与聚乳酸（PLA）共同组成多孔框架材料以制备出有一定强度，高孔隙率且生物相容性好的骨替代材料。

本发明提出的纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料的制备方法，包括下列各步骤：

(1) 将 H_3PO_4 逐滴加入胶原溶液中，每 0.1mol H_3PO_4 加入 1.79g 胶原，滴加 H_3PO_4 时要注意滴加的速度要慢~1 滴/秒，同时要用搅拌器搅拌，滴加完毕后继续搅拌此溶液 20 分钟；

(2) 称取结晶良好的 $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ 溶于去离子水使其完全溶解，随后将其逐滴加入到步骤 1 制备的溶液中，其中 $CaCl_2$ 和 H_3PO_4 的摩尔比为 1.66，并继续搅拌 1 小时以保证钙离子和磷酸根的充分分散；

(3) 逐滴加入 NaOH 溶液以使 pH 值为 6~8，pH 值用试纸测定，在 pH 值为 5~6 时开始出现沉淀 pH 值为 7 时出现白色悬浊液；

(4) 静置溶液除去上清，离心分离出沉淀，用去离子水反复清洗三次后，放入冻干机内冰冻干燥，制得钙磷盐干粉备用；

(5) 聚乳酸称量后置于烧瓶中，加入 1,4-二氧六环溶剂以制备浓度为 1%—10% 重量体积比的溶液，混合物在 40~50℃ 搅拌 10~15 分钟，得到均质的溶液；

(6) 在上述溶液中加入钙磷盐粉料，钙磷盐与聚乳酸的质量比为 0.8~1.2，制得聚乳酸/钙磷盐/胶原混合物；

(7) 聚乳酸/钙磷盐/胶原复合多孔材料通过热致分相及随后溶剂的升华制得。取聚乳酸/钙磷盐/胶原/1,4-二氧六环 混合物加热至 40~50℃ 停留 3~5 分钟后转移到冰箱中在 -15~0℃ 冷冻以固化溶剂并引起固液分相，固液分相是指 1,4-二氧六环结晶后溶质也析出固化，固化的混合物在此温度下保温 1~2 小时然后浸入液氮深度冷冻 10~15 秒钟，随后拿到冻干机中冰冻干燥 72~100 小时以彻底移除溶剂，即为本发明的纳米相钙磷盐/胶原/聚乳酸骨复合多孔材料。

本发明制备的材料具有大量连通的 60~200 微米微孔，且孔隙率很高约为 65%~

6
85%，孔隙率与溶液浓度有关浓度越小孔隙率越大。此材料的强度和生物相容性也很好。很有希望作为骨材料得到应用。

下面介绍本发明的实施例

实施例 1：

所用材料为 CELLOON 公司购买的液态 I 型胶原（浓度：0.3% 溶液 pH 值由 HCl 调整所含胶原为纯化的牛皮胶原）、分析纯的 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、分析纯磷酸（含量>=85% 密度 1.689g/ml）。

(1) 100ml 胶原中滴加 1.125ml 磷酸时滴加速度 1 为滴/秒。滴加完毕后继续搅拌此溶液 20 分钟；

(2) 称取结晶良好的 $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 6.01g 溶于 20ml 去离子水使其完全溶解将其滴加入上一步制得的溶液中后，继续搅拌 1 小时；

(3) 加入 0.75mol/l NaOH 溶液至 pH 值为 7；

(4) 静置溶液除去上清，离心分离出沉淀用去离子水反复清洗三次后放入冻干机内进行冰冻干燥，制得干粉备用；

(5) 称取 0.5g 聚乳酸置于烧瓶中，加入 5ml 1,4-二氧六环得到 10% 的溶液。混合物在 50℃ 搅拌 10 分钟，得到均质的溶液；

(6) 加入 0.5g 制得的钙磷盐粉料；

(7) 取上一步制得的混合物加热至 50℃ 停留 3 分钟后转移到冰箱中温度为 -10℃，冷冻固液分相，固化的混合物在此温度下保温 2 小时然后浸入液氮 10 秒，样品随后拿到冻干机中冰冻干燥，时间为 72 小时；

实施例 2：

所用原料与钙磷盐/胶原干粉的制备方法与实施例一同

(1) 称取 0.25g 聚乳酸置于烧瓶中，加入 5ml 1,4-二氧六环得到 5% 的溶液，溶

液在 50℃ 搅拌 10 分钟，得到均质的溶液。加入 0.25g 制得的钙磷盐粉料。

(2) 上一步制得的混合物加热至 50℃ 保温 3 分钟后转移到冰箱中温度为 0℃，

冷冻固液分相，固化的混合物在此温度下保温 2 小时然后浸入液氮 10 秒，随后拿到冻干机中冰冻干燥，时间为 96 小时；

实施例 3：

所用原料与钙磷盐/胶原干粉的制备方法与实施例一同

(1) 称取 0.375g 聚乳酸置于烧瓶中，加入 5ml 1,4-二氧六环得到 7.5% 的溶液，在 50℃ 搅拌 10 分钟，得到均质的溶液。加入 0.3g 制得的钙磷盐粉料，钙磷盐与聚乳酸比例为 0.8；

(2) 上一步制得的混合物加热至 50℃ 停留 4 分钟后转移到冰箱中，温度为 -10℃，冷冻固液分相，固化的混合物在此温度下保温 2 小时然后浸入液氮 10 秒。样品随后拿到冻干机中冰冻干燥，时间为 72 小时。



Creation date: 08-08-2003

Indexing Officer: YINGILA - YOTAKA INGILA

Team: OIPEBackFileIndexing

Dossier: 09845724

Legal Date: 28-06-2001

No.	Doccode	Number of pages
1	CTMS	1

Total number of pages: 1

Remarks:

Order of re-scan issued on